Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen
Krankenhauses Neukölln
Ärztl. Direktor: Professor Dr. med. Klaus Holldack

Reifungsphänomene der Granulopoese akuter Leukämien in Vitro

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

1968

vorgelegt von
Keller, Konrad
aus Herford

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552710_0060

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen
Krankenhauses Neukölln
Ärztl. Direktor: Professor Dr. med. Klaus Holldack

Reifungsphänomene der Granulopoese akuter Leukämien in Vitro

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Keller, Konrad
aus Herford

Dekan: Professor Dr.med. Hans Wolfgang S p i e r

Referent: Priv.Doz.Dr.med. Irene B o l l

Korreferent: Professor Dr.med., Dr.sc.h.c., Dr.med.vet.h.c., Dr.med.h.c. Hans Freiherr v. K r e ß

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 19.2.1968

UNIV. LEIDEN BIBL.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I	Fragestellung	1
II	Methode	2
III	Ergebnisse	5
IV	Diskussion	39
V	Zusammenfassung	44
VI	Literatur	45

I. Fragestellung

"Unter Leukämie versteht man heute ein Krankheitsbild, das durch irreversible Wucherung leukozytärer Zellen in verschiedenen Graden der Reife und Abartung sowohl in den normalen Bildungsstätten, als auch außerhalb derselben mit und ohne Ausschwemmung in das strömende Blut gekennzeichnet ist." (HEILMEYER, Handbuch der inneren Medizin).

Betrachtet man unter Hintansetzung der klinischen Symptome die nach PAPPENHEIM gefärbten Knochenmarksausstriche, so zeigt das zellmorphologische Bild, daß die unreifzelligen granulopoetischen Fraktionen vorherrschen. Differenziertere Betrachtungen lassen nach morphologischen Kriterien wesentlich vier Unterscheidungen treffen:

1. Den Hauptanteil des Myelogramms nehmen Myeloblasten ein.
2. Myeloblasten und Promyelozyten kommen gemeinsam oder aber Promyelozyten in Sonderheit vermehrt vor.
3. Atypische Formen beherrschen als Paramyeloblasten das Knochenmark.
4. Mikroformen - auch in den reiferen weißen Vorstufen - sind vermehrt vertreten.

Zahlreiche Untersuchungsmethoden werden angewandt, die formale Genese der pathologisch veränderten Proliferation zu erfassen. Proliferation umfaßt Regeneration, als Mitosehäufigkeit verstanden, und Reifung. Eine in Kultur gesetzte Population weißer Knochenmarkszellen zeigt normalerweise eine ausgeprägte Reifung, im Myelogramm sichtbar als prozentuale Verschiebung zu reiferen Vorstufen (BOLL 1966). Über Reifungseffekte in vitro bei Leukosen im Kindesalter berichtete THOMAS 1957.

Unsere in vitro Beobachtungen beziehen sich auf akute Erwachsenen-Leukosen. Im Folgenden sollen anhand von Myelogrammen und Reifungskurven die Reifungsphänomene der granulozytären Zellen akuter Leukosen in vitro untersucht werden.

II. Methode

1. Herstellung der Präparate.

Die Sternalpunktion wird 1-6 Stunden nach Blutentnahme, die für die Herstellung des Nativ-Humanplasmas dient, vorgenommen. Ein Teil der aspirierten Markbröckchen wird möglichst blutfrei auf Objektträgern ausgestrichen und nach der Methode von PAPPENHEIM gefärbt. Die MAY-GRÜNEWALD Lösung läßt man 3 Minuten, die GIEMSA Lösung 25 Minuten einwirken. Zur Kultivierung wird der andere Teil des Punktats in ein Blockschälchen, das eine 0,3 mg% Heparinlösung enthält, überführt und in einer Petrischale verschlossen. Das Plasma wird mit "Corhormon" und HANKS Lösung gemischt. Nach Gerinnung des Mediums wird ein Knochenmarksbröckchen darauf gesetzt und mit einem kleinen Serumtröpfchen bedeckt. Bis zur Fixierung werden die Kulturen im Brutschrank bei 37°C inkubiert. Nach ein, zwei und drei Tagen werden Zellausstriche angefertigt, wobei ein ausgewanderter Zellanteil vom ursprünglichen Bröckchen zu unterscheiden ist. Sie werden in gleicher Weise wie oben gefärbt (BOLL u. FUCHS).

2. Auswertung der Präparate.

Mit der Lupe orientiert man sich über die Zellaussaat und sucht anschließend nach einem gut gefärbten Areal, das zur Differenzierung mit der Ölimmersionsvergrößerung geeignet ist. Da sich im Verhältnis zum Mittelstück in den Randzonen der Präparate reifere und meist besser differenzierbare Zellen finden, werden des repräsentativen Querschnitts wegen in beiden Gebieten nach meanderförmigem Schema insgesamt 1000 Zellen der Granulopoese gezählt und in Prozent angegeben. Kerne ohne Plasmasaum bleiben unberücksichtigt. Die Zellen der Erythropoese, lymphoide Retikulumzellen, Lymphozyten und Plasmazellen werden im Originalausstrich mitgezählt und ihre Anteile am Myelogramm ermittelt. Bei der Differenzierung sind wir weitgehend den Definitionen ROHRs gefolgt:

a) Myeloblast

Als Myeloblast (Hämocytoblast FERRATA, Neutrophiloblast UNDRITZ zit. n. ROHR) wird eine verhältnismäßig große, ungranulierte Zelle bezeichnet. Sein Durchmesser schwankt zwischen 12 und 20μ. Der Kern ist meist rund, selten leicht eingedellt und

füllt die Zelle weitgehend aus, so daß nur ein schmaler, basophiler Plasmasaum sichtbar ist. Die Kernstruktur ist fein netzförmig, weich gezeichnet und wenig unterschiedlich in der Dichte. Häufig finden sich 1-3 scharf begrenzte Nukleolen. Die Peroxydasereaktion ist negativ. Myeloblasten sind nur spärlich im normalen Mark vorhanden und betragen nicht mehr als 0,5% - 2%.

b) Promyelozyt

Als Promyelozyt wird die größte Zelle der Granulopoese bezeichnet. Plasmasaum und Kerngröße bedingen den Größenzuwachs. Sein Durchmesser wird mit 16 - 27 μ angegeben. Der Kern ist rundlich oder oval. Er besitzt eine dichte Kernstruktur und auffallend große Nukleolen. Das Plasma ist stärker vertreten und geringer basophil als das der Myeloblasten. Es zeigt eine azurophile Granulation. Die Peroxydasereaktion ist positiv. Diese Zelle entspricht dem Leukoblasten nach LIMARZI und den "Progranulozyten" nach OSGOODs Terminologie (zit. n. ROHR).

c) Neutrophiler Myelozyt

Als neutrophiler Myelozyt wird eine Zelle bezeichnet, die verschiedene Reifungsformen zusammenfaßt. Die unreifen Formen mit azurophiler Granulation wurden bei unseren Zählungen den Promyelozyten zugerechnet. Der reife Myelozyt enthält keine azurophile Granulationen mehr und ist erheblich kleiner als der Promyelozyt. Sein Durchmesser schwankt zwischen 12 und 18 μ. Das oxyphile Plasma färbt sich nach PAPPENHEIM zart rosa. Der Kern stellt sich gelegentlich rund, gelegentlich bohnenförmig dar und zeigt eine dichte Struktur.

d) Metamyelozyt

Der Metamyelozyt hat einen stärker eingebuchteten Kern mit noch dichterer Chromatinstruktur, das Plasma ist reif oxyphil.

e) Stabkernige

Als stabkernig wird eine Zelle bezeichnet, deren Kern einem gebogenen Stab gleichbleibender Dicke entspricht. Seine Struktur ist wesentlich dichter als die des Metamyelozytenkerns.

f) Segmentkernige

Als Segmentkernige werden Zellen gezählt, deren Kernbrücken 1/3 und weniger der Kernsegmentdicke ausmachen. Ihre Größe schwankt zwischen 10 und 15 μ. Die neutrophile Granulation hebt

sich vom blaßgrau gefärbten Plasma nur gering ab.

g) Lymphozyt

Man unterscheidet große und kleine Lymphozyten. Den größten Teil bilden die kleinen Formen. Ein dichter, grobklumpiger Kern läßt meist nur noch einen schmalen, dunkelblauen Plasmasaum erkennen. Bei den großen Lymphozyten ist der Plasmasaum wesentlich breiter, die Kernstruktur etwas aufgelockerter.

h) Plasmazellen

Sie zeigen wechselnde Größe, wobei der Kern nur geringen Schwankungen unterworfen ist. Die Zellbegrenzung ist oft sehr scharf, häufig unregelmäßig gestaltet, das Plasma meist dunkel basophil mit oder ohne perinukleären Hof und gelegentlich starker Vakuolisierung. Der Kern liegt im allgemeinen exzentrisch, neigt zu Radspeichenstruktur und zeigt vereinzelt einen Nukleolus.

i) Lymphoide Retikulumzelle

Die kleine lymphoide Retikulumzelle entspricht in ihrer mittleren Größe dem reifen Lymphozyten, enthält einen kreisrunden oder leicht elliptischen Kern mit scharfer Begrenzung. Das Plasma ist leicht bläulich, der Zelleib unscharf begrenzt. Große lymphoide Retikulumzellen haben einen ovalen Kern mit besonders lockerem, grobmaschigem Chromatinnetz, von der Größe eines Myeloblastenkerns oder größer.

3. Anfertigung der Reifungskurven.

Die einzelnen granulopoetischen Zellfraktionen werden ihrem prozentualen Anteil gemäß dargestellt in der Weise, daß 1% einem Millimeter entspricht. Eosinophile und basophile Myelozyten werden den Myelozyten, eosinophile und basophile Stab- und Segmentkernige den neutrophilen Segmentkernigen zugerechnet. Mikroformen unter 1% finden keine gesonderte Darstellung. Die Zeiteinheit wird zu 4 cm pro Kulturtag bemessen. Die Punkte entsprechen den Zellfraktionen in % und sind linear verbunden.

III. Ergebnisse

Es werden die Kulturansätze von 15 Sternalpunktaten akuter Leukosen ausgewertet.

Gliederung der Einzelergebnisse:

Klinische Befunde und Labordaten
Befundung des Sternalpunktats
Tabelle der prozentualen Zellverteilung der Granulopoese
Reifungskurven = Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit

1) Heinrich B., 73 Jahre. Einweisung wegen unstillbarem Nasenbluten und "schlechtem" Blutbild.
Erste Untersuchungsergebnisse: Ery.: $3{,}99 \times 10^6$. Hb: 14,9 g%.
Leuko.: 33900. Thrombo.: 181000. BKS: 10/25.
Diagnose: akute Parablasten-Leukose.
Therapie vor der Sternalpunktion: keine spezifische.
Exitus letalis infolge des bestehenden Leidens.
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 3 1/2 Jahre.

Im Originalausstrich des Sternalpunktats kommen Zellen aller Reifestufen der Erythropoese vor. Insgesamt ist die rote Reihe hypoplastisch (4,6%). Plasmazellen (0,2%) und Lymphozyten (2,6%) befinden sich im Bereich der Norm. Das Bild wird beherrscht von unreifen Granuloblasten. Am ausgeprägtesten ist der Myeloblastenanteil vermehrt vertreten. Die Vielzahl der angesprochenen Atypien (s. Methode) bestimmt die Diagnose: Parablasten-Leukose.

		0h	24h
(1)	Myelobl.	40,2	30,9
(2)	Mikroformen	1,0	7,7
(3)	Promyel.	10,4	12,7
(4)	Mikroformen	-	0,5
(5)	Myeloc.	21,8	28,4
(6)	Mikroformen	0,1	3,0
(7)	eos. M.	0,7	0,7
(8)	bas. M.	-	0,2
(9)	Jgdl.	9,4	9,1
(10)	Stabk.	9,7	4,2
(11)	Segm.	6,5	2,2
(12)	eos.+bas. S.	0,2	0,4
		100,0	100,0

Tab. 1: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.

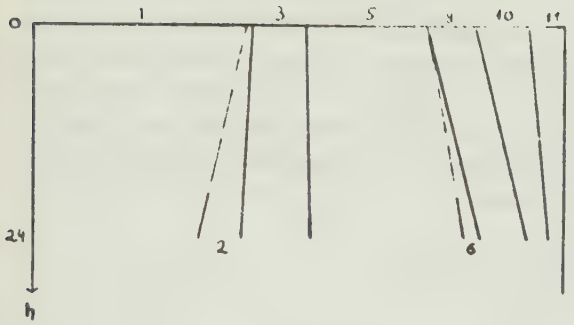

Abb. 1

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.1). (Die Reifungskurve konnte nur bis 24 Stunden dargestellt werden):
Die Myeloblasten erfahren eine geringfügige Verminderung.
Der Promyelozytenanteil bleibt unverändert.
Die Myelozyten nehmen geringfügig zu.
Die Mikroformen zeigen eine nur geringe Zunahme. Mikroformen von Promyelozyten abgeleitet, sind unter 1% vertreten und finden keine Darstellung.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich in dem Maße, wie der Myelozytenanteil zunimmt.
Zusammenfassung:
Nach 24 Stunden wird keine Reifung sichtbar. Der geringfügigen Zunahme der Myelozyten und der Mikroformen steht die Abnahme der Myeloblasten und die Verminderung der nicht teilungsfähigen Granulopoesefraktion gegenüber.

2) Artur R., 62 Jahre. Seit drei Wochen plötzlich auftretende Schwindelgefühle, Atemnot, allgemeine Schwäche, schlechter Appetit, starke Gewichtsabnahme.
Erste Untersuchungsergebnisse: Ery.: $1{,}93 \times 10^6$. Hb: 6,7 g%.
Leuko.: 7100. Thrombo.: 111000. BKS: 20/45.
Diagnose: akute Paramyeloblasten-Leukose.
Therapie vor der Sternalpunktion: keine spezifische.
Plötzlicher exitus letalis.

Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 20 Tage.

Im Originalausstrich ist bei Zählung von 1000 Zellen der Granulopoese die rote Reihe nicht vertreten, ebenso finden sich keine Plasmazellen. Lymphozyten im Normbereich (8,8%). Das morphologische Bild wird bestimmt durch blastenähnliche Zellen, die sich entgegen sonstigen Einteilungen zwei Kategorien zuordnen lassen, definiert durch folgen Merkmale:
a) fein struturierter Kern;
intensiv blaugefärbtes Zytoplasma;
Zellgröße auffallend variabel.

b) Kernstruktur retikulär;
Plasmafärbung meist weniger intensiv blau.
Beiden Gruppen ist gemeinsam, daß die Kern-Plasma-Relation erheblich schwankt. Im Kern finden sich mehrere Nukleolen. Beide werden als Myeloblasten bezeichnet. Die Myelozyten haben ein schwach blaugefärbtes Zytoplasma. Nacktkernigkeit tritt gehäuft auf. Auch in dieser Fraktion lassen sich Anteile mit retikulärer Chromatinstruktur unterscheiden. Mikroformen treten nicht auf.

		0h	24h	48h
(1)	Myelobl.	74,6	66,5	74,2
(3)	Promyel.	1,5	0,9	0,1
(5)	Myeloz.	21,6	31,1	25,5
(7)	eos. M.	-	0,2	-
(8)	bas. M.	-	-	0,1
(9)	Jgdl.	0,9	0,3	0,1
(10)	Stabk.	0,4	-	-
(11)	Segm.	0,8	0,5	-
(12)	eos.+bas. S.	0,2	0,5	-
		100,0	100,0	100,0

Tab. 2: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.

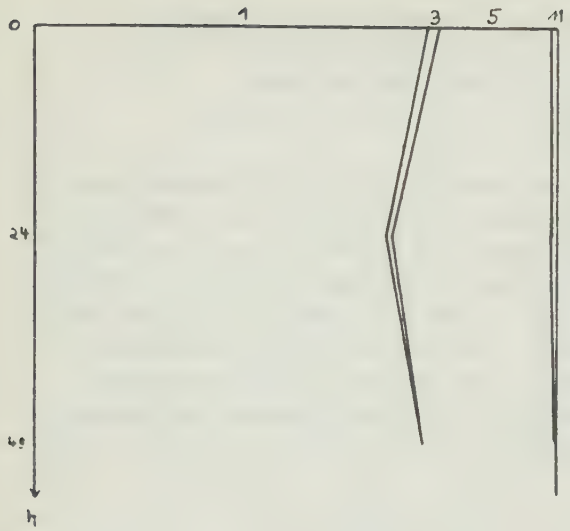

Abb. 2

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.2). (Die Reifungskurve konnte nur bis 48 Stunden dargestellt werden):
Myeloblasten (Paramyeloblasten), Promyelozyten und Myelozyten haben im Verlauf von 48 Stunden ihren Ausgangswert annähernd beibehalten. Die geringfügigen Schwankungen in der relativen Verteilung sind mit Zuordnungsschwierigkeiten der Parablasten teilweise zu erklären.
Mikroformen treten nicht auf.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich fortschreitend. Nach 48 Stunden ist sie nicht mehr vertreten.
Zusammenfassung:
Bis zu 48 Stunden Beobachtungszeit wird keine Reifung sichtbar.

3) Edith P., 33 Jahre. Seit fünf Monaten starke Müdigkeit, Temperatur um 38°, Lymphknotenschwellung an der linken Halsseite, Zahnfleischbluten, Hämatome nach kleinsten Traumen.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: $3{,}88 \times 10^{6}$. Hb: 12,7 g%.
Leuko.: 166000. Thrombo.: 97000. BKS: 15/21.

Diagnose: Mikromyeloblasten-Leukose.
Spezifische Therapie vor der Sternalpunktion: Prednison.
Zunehmende Verschlechterung des Befindens; exitus letalis.
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 4 Monate.

Originalausstrich: die rote Reihe ist mit 6,3% hypoplastisch, jedoch in allen Reifestufen vorhanden. Lymphoide Retikulumzellen und Plasmazellen finden sich nicht, ebenso keine Zellen der nicht teilungsfähigen Granulozytenfraktion. Lymphozyten im Normbereich (5,6%). Zahlreich sind eosinophile Myelozyten vertreten. Das morphologische Bild wird von vorwiegend kleinen myeloblastenähnlichen Zellen mit schmalem Zytoplasmasaum beherrscht. Das Krankheitsbild ist dem vorliegenden Zellausstrich entsprechend als Mikromyeloblasten-Leukose anzusprechen.

		0h	24h	48h
(1)	Myelobl.	81,2	60,7	27,1
(2)	Mikroformen	15,6	34,9	60,1
(3)	Promyel.	0,2	0,9	2,1
(4)	Mikroformen	-	0,3	2,1
(5)	Myeloz.	2,8	2,7	7,1
(6)	Mikroformen	0,2	0,5	1,5
(7)	eos. M.	-	-	-
(8)	bas. M.	-	-	-
(9)	Jgdl.	-	-	-
(10)	Stabk.	-	-	-
(11)	Segm.	-	-	-
(12)	eos.+bas. S.	-	-	-
		100,0	100,0	100,0

Tab. 3: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.

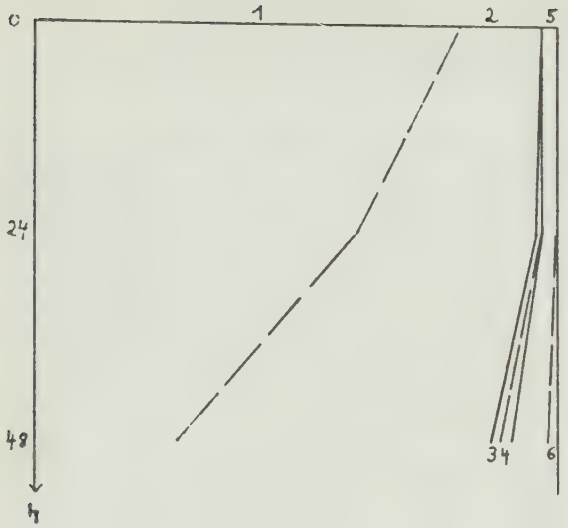

Abb. 3

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.3). (Die Reifungskurve konnte nur bis 48 Stunden dargestellt werden):
Die Myeloblasten erfahren eine fortschreitende, ausgeprägte Verminderung.
Promyelozyten und Myelozyten nehmen ganz geringfügig zu.
Die Mikroblasten zeigen die auffallendste Veränderung: in 48stündiger Kultur machen sie den Hauptanteil mit circa 60% aus.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion ist nicht vertreten.
Zusammenfassung:
Bis zu 48 Stunden Beobachtungszeit prägt sich keine Reifung aus.
Der Verminderung der Myeloblasten entspricht die exzessive Zunahme der Mikroblasten.

4) Ursula D., 38 Jahre. Seit Jahren ständig "blaue Flecke". Mattigkeitsgefühl und Belastungsdyspnoe. Vor einigen Wochen schwere Angina.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: $1{,}2 \times 10^6$. Hb: 4 g%.
Leuko.: 1150. Thrombo.: 37280. BKS: 40/95.

Spezifische Therapie vor der Sternalpunktion: ACTH u. Prednison.
Exitus letalis infolge Herz- und Kreislaufversagens.
Der Sektionsbefund bestätigte die klinische Diagnose.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 12 1/2 Monate.

Das Ausstrichpräparat zeigt mittlere Zelldichte. Die myeloische Reihe ist in allen Reifestufen vertreten. Blasten verschiedener Größe, meistens gekennzeichnet durch schmalen, hellblauen Plasmasaum, finden sich anteilmäßig zu 70%. Reife Granulozyten sind relativ selten vertreten. Lymphozyten (4,4%) und Plasmazellen (1,5%) im Normbereich. Es lassen sich einige große lymphoide Retikulumzellen diagnostizieren. Die Erythropoese ist nur mäßig verdrängt (Myelogrammanteil: 9,4%). Den genannten Kriterien entsprechend, handelt es sich um eine Mikromyeloblasten-Leukose.

		0h	24h	48h	72h
(1)	Myelobl.	54,4	49,5	53,2	45,4
(2)	Mikroformen	16,0	14,1	14,6	13,3
(3)	Promyel.	10,0	12,7	13,2	14,5
(4)	Mikroformen	-	0,4	0,4	0,3
(5)	Myeloz.	10,3	20,2	15,7	22,5
(6)	Mikroformen	0,3	1,0	0,9	1,0
(7)	eos. M.	0,5	-	0,1	0,6
(8)	bas. M.	1,1	0,5	0,2	0,6
(9)	Jgdl.	4,0	1,5	1,0	1,6
(10)	Stabk.	2,8	0,1	0,2	0,1
(11)	Segm.	0,4	-	0,5	0,1
(12)	eos.+bas. S.	0,2	-	-	-
		100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 4: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.

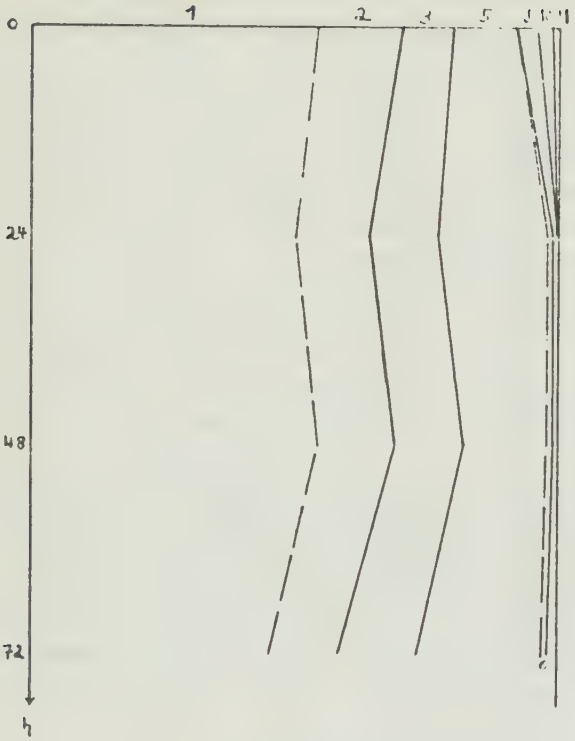

Abb. 4

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.4):
Die Myeloblasten haben nach 72 Stunden Beobachtungszeit eine nur geringfügige Verminderung erfahren.
Die Promyelozyten nehmen nicht zu.
Der Myelozytenanteil ist gegenüber dem Ausgangswert deutlich vermehrt.
Die Mikroformen verhalten sich relativ konstant.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich bis zu 24 Stunden Beobachtungszeit und erfährt weiterhin kaum eine Veränderung.

Zusammenfassung:
Nach 72 Stunden Beobachtungszeit wird eine Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion kaum sichtbar. Der Mikroanteil bleibt relativ konstant.

5) Emma H., 69 Jahre. Blasses Aussehen, Mattigkeit, starke Gewichtsabnahme.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 700000. Hb: 2,5 g%.
Leuko.: 2300. Thrombo.: 15000. BKS: 140/175.
Diagnose: akute Promyelozyten-Leukose.
Spezifische Therapie vor der Sternalpunktion:
6-Mercaptopurin und Prednison.
Unter Zeichen des Herz- und Kreislaufversagens exitus letalis.
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 31 Tage.

Der zelldichte Ausstrich zeigt eine stark hypoplastische Erythropoese (0,2%), die nicht in allen Reifestufen vertreten ist. Normgerecht verhalten sich lymphoide Retikulumzellen, Plasmazellen (0,6%) und Lymphozyten (3,5%). Unter den Myeloblasten finden sich zahlreiche Mikroformen. Das morphologische Bild wird beherrscht von Promyelozyten, so daß an einer Promyelozyten-Leukose nicht gezweifelt werden kann.

		0h	24h	48h	72h
(1)	Myelobl.	30,5	9,2	30,7	3,0
(2)	Mikroformen	5,8	25,8	12,9	18,8
(3)	Promyel.	38,4	12,7	6,3	4,9
(4)	Mikroformen	0,6	29,3	1,2	5,4
(5)	Myeloz.	19,3	13,2	43,3	27,1
(6)	Mikroformen	0,5	7,8	3,2	40,8
(7)	eos. M.	-	-	-	-
(8)	bas. M.	-	-	-	-
(9)	Jgdl.	2,1	1,1	1,5	-
(10)	Stabk.	1,1	0,5	0,3	-
(11)	Segm.	1,6	0,4	0,6	-
(12)	eos.+bas. S.	0,1	-	-	-
		100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 5: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.

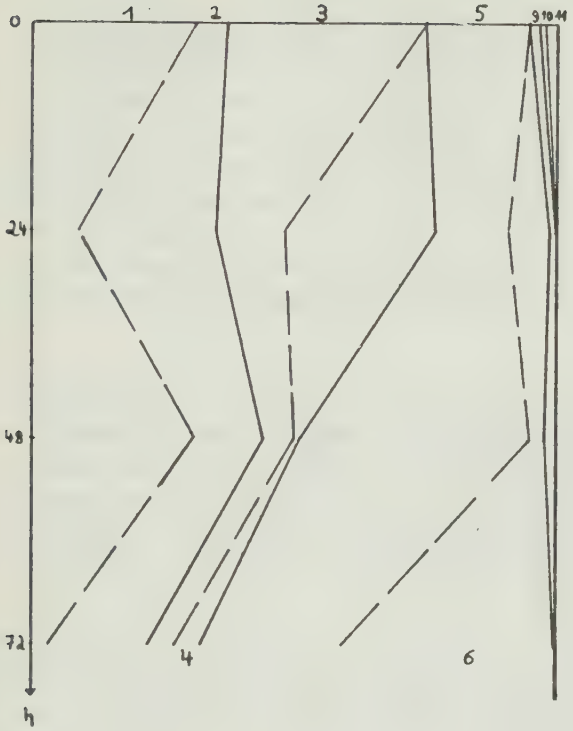

Abb. 5

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.5):
Die Reifungskurve läßt keine Kontinuität in der Reifungsdynamik erkennen.
Die Myeloblasten verringern sich während der ersten 24 Stunden erheblich. Nach 48 Stunden Beobachtungszeit ist ihr Ausgangswert wieder erreicht. In 72stündiger Kultur sind sie in den Normbereich gerückt.
Die Promyelozyten verringern sich fortschreitend, am ausgeprägtesten innerhalb der ersten 24 Stunden, während sich der Mikroanteil erheblich vergrößert.

Die Myelozyten sind nach 48 Stunden am ausgeprägtesten vermehrt. Anschließend nimmt ihr Mikroanteil exzessiv zu.
Die wesentliche Verschiebung nach 48 und 72 Stunden Beobachtungszeit hat innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion zugunsten der Myelozyten stattgefunden.
Die Mikroformen machen in 24stündiger Kultur mehr als 60% aus, in annähernd gleicher Anzahl von Myeloblasten und Promyelozyten gebildet. Nach 48 Stunden ist der Mikroanteil weit geringer. In 72stündiger Kultur steigt er auf 65% an, in der Mehrzahl von Myelozyten gebildet.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich während der ersten 24 Stunden. In 72stündiger Kultur ist sie nicht mehr vertreten.
Zusammenfassung:
Nach 72 Stunden Beobachtungszeit ist einerseits die Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion sichtbar ausgeprägt; die Myeloblasten gelangen in den Normbereich. Andererseits machen die Mikroformen, mit Präferenz von den Myelozyten während des zweiten und dritten Kulturtages gebildet, 65% aller granulopoetischen Zellen aus. Eine Schädigung der 24 Stunden Kultur sollte diskutiert werden.

6) Richard W., 83 Jahre. Seit jüngster Zeit häufiger Angina pectoris Anfälle, Schüttelfrost, Fieber, Müdigkeit, Atemnot.
Erste Untersuchungsergebnisse: Ery.: $2{,}87 \times 10^6$. Hb: 9,4 g%.
Leuko.: 18350. Thrombo.: 62580. BKS: 2/4.
Diagnose: akute Promyelozyten-Leukose.
Therapie vor der Sternalpunktion: keine spezifische.
Exitus letalis bei akutem Myeloblastenschub.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 19 Tage.

Im vorliegenden Ausstrich befinden sich lymphoide Retikulumzellen, Plasmazellen (0,6%) und Lymphozyten (3,2%) im Bereich der Norm. Die Erythropoese ist unwesentlich zurückgedrängt (14%), in allen Reifestufen vertreten. Neben Myeloblasten sind Promyelozyten besonders vermehrt. Dieser Eindruck wird durch die Peroxydasefärbung bestätigt. Reife Granulozyten kommen in allen Stufen vor, quantitativ unter der Norm liegend. Die Peroxydasereaktion bestimmt das Urteil: Promyelozyten-Leukose.

		0h	24h	48h	72h
(1)	Myelobl.	42,8	23,1	5,7	2,7
(2)	Mikroformen	5,7	7,3	2,8	3,1
(3)	Promyel.	24,3	45,0	42,9	33,5
(4)	Mikroformen	-	0,1	2,3	1,5
(5)	Myeloz.	12,9	14,3	32,5	39,5
(6)	Mikroformen	-	1,7	4,8	5,0
(7)	eos. M.	0,2	0,1	-	0,2
(8)	bas. M.	0,4	0,3	0,1	-
(9)	Jgdl.	7,2	5,1	6,5	9,8
(10)	Stabk.	3,9	1,8	1,1	2,4
(11)	Segm.	2,6	1,2	1,3	2,3
(12)	eos.+bas. S.	-	-	-	-
		100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 6: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.

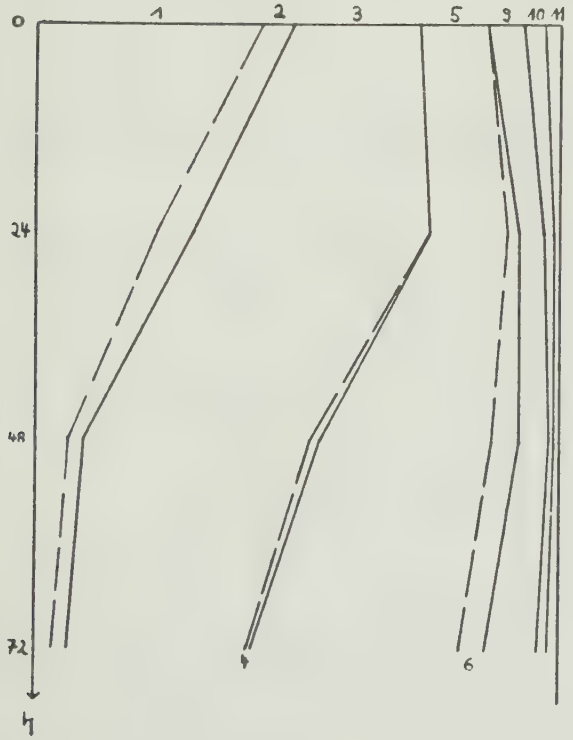

Abb. 6

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.6):
Die Myeloblasten erfahren eine fortschreitende, ausgeprägte Verminderung. Nach 72 Stunden befinden sie sich im Normbereich.
Die Promyelozyten nehmen während der ersten 24 Stunden zu. Anschließend zeigen sie eine fortschreitende, geringgradige Verminderung.
Die Myelozyten vermehren sich fortschreitend bis zu 72 Stunden.
Der Verminderung der Myeloblasten entspricht jene Veränderung, daß nach 24 und 48 Stunden die Promyelozyten den prozentual größten Teil ausmachen, nach 72 Stunden die Myelozyten.
Die Summe der Mikroformen bleibt während 72 Stunden Beobachtungszeit annähernd konstant.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich während der ersten 24 Stunden; sodann strebt sie dem Ausgangswert wieder zu.
Zusammenfassung:
Bis zu 72 Stunden Beobachtungszeit prägt sich eine deutliche Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion aus.
Der prozentuale Anteil der Mikroformen bleibt relativ konstant.

7) Edith W., 37 Jahre. Anämie seit längerer Zeit, akute Angina.
Erste Untersuchungsergebnisse: Ery.: $1{,}81 \times 10^6$. Hb: 7,6 g%.
Leuko.: 3750. Thrombo.: 170000. BKS: 111/138.
Diagnose: akute Promyelozyten-Leukose.
Therapie vor der Sternalpunktion: keine spezifische.
Exitus letalis durch Herzversagen bei extremer Anämie und terminaler Bronchopneumonie.
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 5 Monate.

Der Zellausstrich, mittlere Zelldichte, läßt eine stark linksverschobene Granulopoese erkennen.
Zahlreiche blastenähnliche Zellen wechselnder Größe sind peroxydase positiv. Lymphozyten (5,2%) und Plasmazellen (0,6%) sind im Bereich der Norm. Die Erythropoese, in allen Reifestufen vorhanden, ist stark hypoplastisch (2,5%). Infolge der exzessiven Vermehrung der unreifen weißen Vorstufen weist das Präparat auf eine Myeloblasten-Promyelozyten-Leukose hin.

		0h	24h	48h	72h
(1)	Myelobl.	48,5	39,0	34,6	4,8
(2)	Mikroformen	3,7	7,7	9,0	21,5
(3)	Promyel.	16,8	27,4	8,2	1,4
(4)	Mikroformen	0,9	1,4	2,2	21,1
(5)	Myeloz.	20,6	20,1	41,0	21,1
(6)	Mikroformen	1,9	1,5	3,1	27,7
(7)	eos. M.	-	0,4	0,4	1,0
(8)	bas. M.	0,9	1,0	0,3	1,4
(9)	Jgdl.	4,2	1,2	1,0	-
(10)	Stabk.	1,6	0,3	0,1	-
(11)	Segm.	0,9	-	0,1	-
(12)	eos.+bas. S.	-	-	-	-
		100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 7: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.

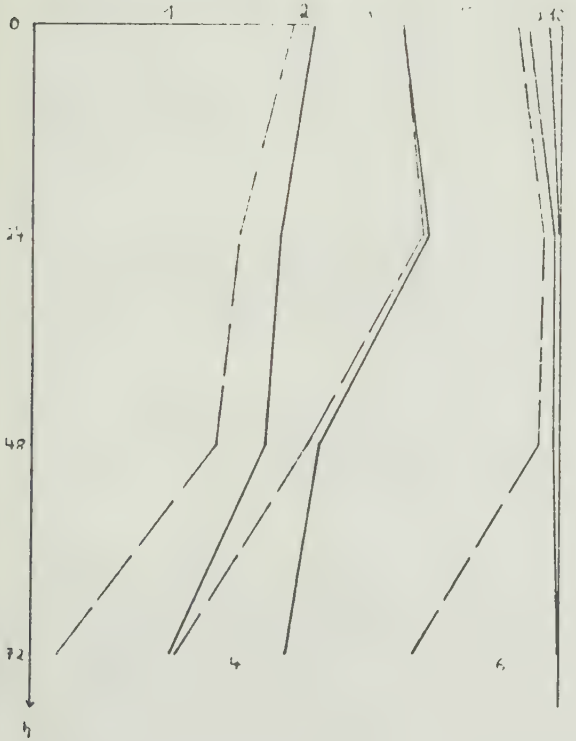

Abb. 7

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.7):
Die Myeloblasten erfahren eine fortschreitende, ausgeprägte Verminderung.
Die Promyelozyten zeigen nach geringfügiger Zunahme in 24stündiger Kultur gleiche Tendenz.
Die Myelozyten vermehren sich zwischen erstem und zweitem Kulturtag erheblich und streben sodann ihrem Ausgangswert wieder zu.
Die Mikroformen nehmen geringfügig bis zu 48 Stunden Beobachtungszeit zu, exzessiv zwischen dem zweiten und dritten Kulturtag. Den Hauptanteil stellen die Myelozyten.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich fortschreitend. Nach 72 Stunden ist sie nicht mehr vertreten.
Zusammenfassung:
Bis zu 48 Stunden Beobachtungszeit wird eine deutliche Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion sichtbar. Sodann geht die Verminderung des Myeloblastenanteils mit exzessiver Zunahme der Mikroformen einher, so daß nach 72 Stunden der Mikroanteil um das Dreifache größer ist als die Zahl der normalgroßen Zellen.

8) Luise L., 73 Jahre. Seit drei Wochen Ulzerationen im Mund, deutliche Appetitminderung, starker Gewichtsverlust, Hämatome.
Erste Untersuchungsergebnisse: Ery.: $4{,}76 \times 10^6$. Hb: 12,6 g%.
Leuko.: 130000. Thrombo.: 116000. BKS: 49/74.
Diagnose: akute Myeloblasten-Leukose.
Therapie vor der Sternalpunktion: keine spezifische.
Plötzlicher Exitus letalis infolge Massenblutung im Gehirn.
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 5 Tage.

Das Ausstrichpräparat zeigt stellenweise sehr zellreiche Areale. Auffallend häufig sind Zellen der myeloischen Reihe mit retikulärer Kernstruktur vertreten, ferner Atypien anderer Art, wie z.B. Monozytenkerne blastenähnlicher Zellen. Lymphoide Retikulumzellen sind deutlich vermehrt, Lymphozyten (2,3%) und Plasmazellen (0,1%) sind unter der Norm vertreten. Die Erythropoese ist stark hypoplastisch (0,2%). Es handelt sich um eine Myeloblasten-Promyelozyten-Leukose.

		0h	24h	48h
(1)	Myelobl.	50,9	54,4	16,5
(2)	Mikroformen	0,8	7,5	3,6
(3)	Promyel.	35,0	10,0	47,8
(4)	Mikroformen	0,8	0,5	3,9
(5)	Myeloz.	6,4	26,0	24,6
(6)	Mikroformen	1,6	0,5	2,9
(7)	eos. M.	0,6	0,1	-
(8)	bas. M.	-	0,1	0,1
(9)	Jgdl.	2,0	0,6	0,2
(10)	Stabk.	0,6	0,1	0,1
(11)	Segm.	0,7	0,2	-
(12)	eos.+bas. S.	0,6	-	0,3
		100,0	100,0	100,0

Tab. 8: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.

Abb. 8

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.8). (Die Reifungskurve konnte nur bis 48 Stunden dargestellt werden):
Die Myeloblasten haben in 48stündiger Kultur eine ausgeprägte Verminderung erfahren.
Promyelozyten und Myelozyten haben zu diesem Zeitpunkt im Vergleich zum Ausgangswert zugenommen.

Mikroformen finden sich geringfügig vermehrt.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich fortschreitend. Nach 72 Stunden Beobachtungszeit ist sie unter 1% vertreten.
Zusammenfassung:
Nach 48 Stunden Beobachtungszeit ist eine deutliche Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion sichtbar. Die Mikroformen nehmen in dieser Zeitspanne geringfügig zu.

9) Frieda P., 55 Jahre. Unklare Beschwerden unter dem rechten Rippenbogen.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: $3{,}73 \times 10^6$. Hb: 11,5 g%.
Leuko.: 2800. Thrombo.: 134280. BKS: 21/44.
Diagnose: akute Myeloblasten-Leukose.
Therapie vor der Sternalpunktion: keine spezifische.
Exitus letalis durch Hirnblutungen bei Hypertonie (RR:180/100).
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 4 1/2 Monate.

Originalausstrich: die erythropoetische Fraktion befindet sich im Normbereich (21,6%), eine Linksverschiebung ist deutlich. Lymphozyten (5,5%) und Plasmazellen (0,5%) sind in normaler Anzahl vertreten. Der gesamte teilungsfähige Komplex der Granulopoese ist vermehrt, der nicht teilungsfähige Myelogrammanteil entsprechend vermindert. Diagnose: Myeloblasten-Leukose.

		0h	24h	48h	72h
(1)	Myelobl.	44,9	32,5	18,1	10,6
(2)	Mikroformen	1,6	5,8	5,8	8,9
(3)	Promyel.	10,9	26,5	15,8	23,5
(4)	Mikroformen	-	0,4	0,9	0,5
(5)	Myeloz.	22,5	24,3	34,0	30,4
(6)	Mikroformen	0,1	0,3	7,4	7,2
(7)	eos. M.	0,4	0,3	0,1	0,2
(8)	bas. M.	0,1	0,5	0,9	0,7
(9)	Jgdl.	11,1	6,3	9,0	9,5
(10)	Stabk.	5,6	1,5	1,6	4,1
(11)	Segm.	2,4	1,6	6,3	4,2
(12)	eos.+bas. S.	0,4	-	0,1	0,2
		100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 9: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.

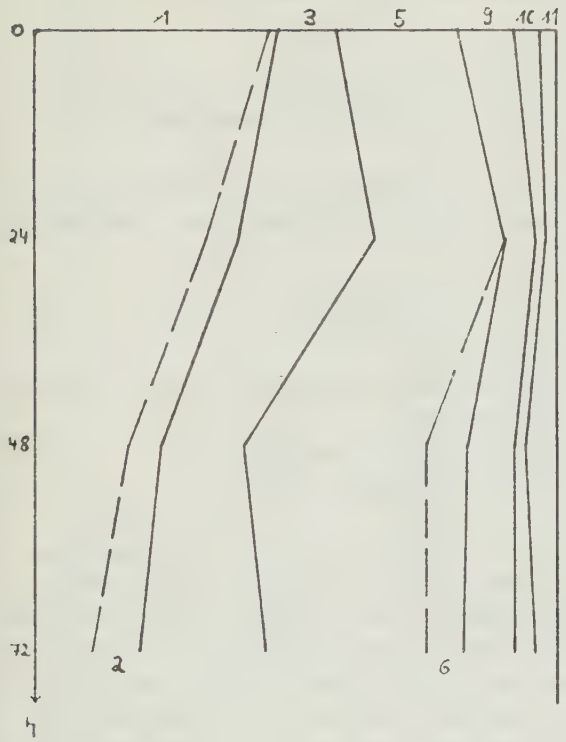

Abb. 9

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.9):
Die Myeloblasten erfahren eine fortschreitende, ausgeprägte Verminderung.
Die Zahl der Promyelozyten und Myelozyten nimmt entsprechend zu.
Die Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion ist in 24stündiger Kultur am deutlichsten als Zunahme der Promyelozyten, in 48stündiger Kultur als Vermehrung der Myelozyten sichtbar.
Die Mikroformen nehmen fortschreitend, wenn auch nur geringfügig bis zu 72 Stunden Beobachtungszeit zu.

Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich während der ersten 24 Stunden und bleibt sodann verhältnismäßig unverändert.

Zusammenfassung:

Innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion wird eine Reifung sichtbar. Die Mikroformen nehmen nur gering zu.

10) Ernst E., 47 Jahre. In den letzten Wochen Gewichtsabnahme, schlechter Schlaf, mangelnder Appetit, Halsschmerzen, Durchfälle, Erbrechen, Schüttelfrost.

Erste Untersuchungsdaten: Ery.: $3{,}14 \times 10^6$. Hb: 10,6 g%.

Leuko: 213000. Thrombo.: 169560. BKS: 3/15.

Diagnose: akute Myeloblasten-Leukose.

Spezifische Therapie vor beiden Sternalpunktaten: 6-Mercaptopurin.

Exitus letalis infolge Herzversagen.

Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose.

Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 5 Monate.

Beide Ausstriche - zeitlicher Abstand ca. 7 Wochen - sind ausgesprochen zelldicht. Die Erythropoese ist stark zurückgedrängt (Myelogrammanteil maximal 1,2%). Im zweiten Punktat ist eine noch stärkere Linksverschiebung sichtbar. Die Eosinophilenfraktion ist in beiden Fällen stark vertreten, Lymphozyten befinden sich im Normbereich (5%-7%), Plasmazellen wurden nicht gefunden. Im zweiten Zellausstrich ist der nicht teilungsfähige Myelogrammanteil weiterhin zurückgetreten. Das morphologische Bild beider Präparate weist auf eine Myeloblasten-Leukose hin.

		0h	24h	48h	72h
(1)	Myelobl.	48,6	39,2	37,4	31,9
(2)	Mikroformen	-	4,8	3,9	5,5
(3)	Promyel.	21,1	21,0	21,3	32,0
(4)	Mikroformen	-	0,9	1,1	2,5
(5)	Myeloz.	11,2	17,9	21,1	13,1
(6)	Mikroformen	-	0,4	4,3	2,9
(7)	eos. M.	4,6	7,6	4,9	7,7
(8)	bas. M.	0,9	1,9	0,1	2,2
(9)	Jgdl.	4,4	1,7	1,5	0,7
(10)	Stabk.	4,1	0,2	1,1	0,4
(11)	Segm.	3,3	1,7	1,8	0,5
(12)	eos.+bas. S.	1,8	2,7	1,5	0,6
		100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 10a: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.
1. Kulturansatz

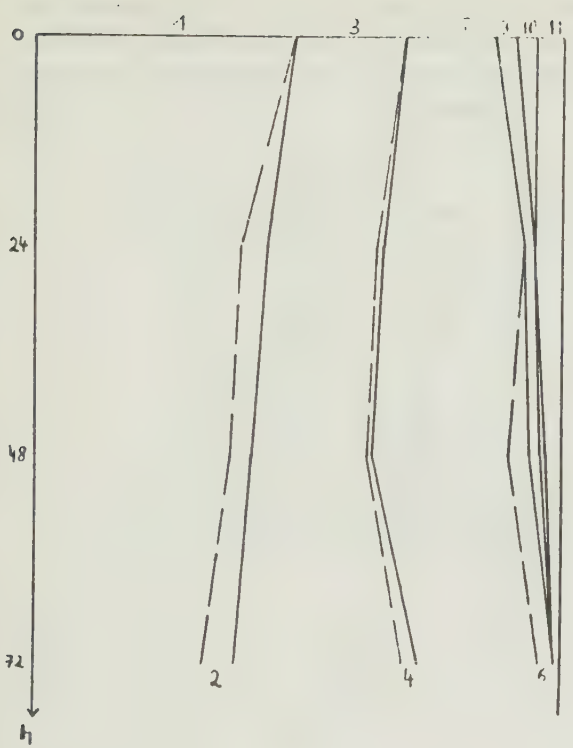

Abb. 10a

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.10a):
Die Myeloblasten erfahren eine fortschreitende, nicht sehr ausgeprägte Verminderung.
Die Promyelozyten verhalten sich bis zu 48 Stunden Beobachtungszeit konstant; anschließend nehmen sie geringfügig zu.
Der Myelozytenanteil vergrößert sich fortschreitend bis zu 48 Stunden und fällt sodann ab.
Die Mikroformen nehmen bis zu 72 Stunden Beobachtungszeit nur gering zu.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich bis zu 72 Stunden Beobachtungszeit fortschreitend.

Zusammenfassung:
Die geringfügigen Veränderungen innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion lassen eine Reifung nur bedingt erkennen. Die Verminderung der Myeloblasten nach 72 Stunden Beobachtungszeit beträgt 34% des Ausgangswertes.

		0h	24h	48h	72h
(1)	Myelobl.	70,9	58,0	43,1	30,4
(2)	Mikroformen	0,7	2,0	3,9	7,9
(3)	Promyel.	19,0	25,6	29,7	29,8
(4)	Mikroformen	0,3	0,7	0,9	2,2
(5)	Myeloz.	1,0	3,2	5,4	8,4
(6)	Mikroformen	-	0,1	0,5	1,0
(7)	eos. M.	1,2	5,0	6,5	14,1
(8)	bas. M.	0,5	1,5	1,4	1,7
(9)	Jgdl.	1,1	1,1	2,3	2,6
(10)	Stabk.	2,0	0,6	1,6	0,6
(11)	Segm.	2,2	0,7	2,3	0,4
(12)	eos.+bas. S.	1,1	1,5	2,4	0,9
		100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 10b: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.
2. Kulturansatz

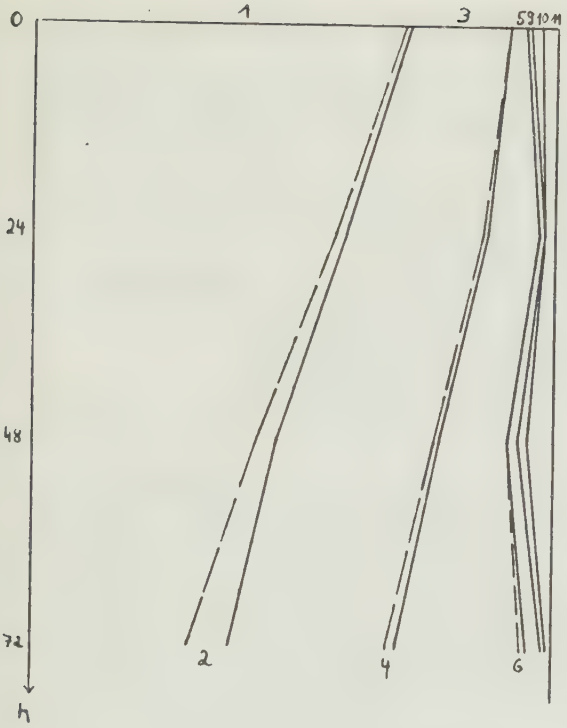

Abb. 10b

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.10b):
Die Myeloblasten erfahren eine fortschreitende, ausgeprägte Verminderung zugunsten der Promyelozyten und Myelozyten.
Die Mikroformen nehmen fortschreitend, aber nur ganz geringfügig zu.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion bleibt annähernd unverändert.
Zusammenfassung:
Bis zu 72 Stunden Beobachtungszeit prägt sich eine deutliche Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion aus.

Die Verminderung der Myeloblasten nach 72 Stunden beträgt 57% des Ausgangswertes.
Die Mikroformen nehmen fortschreitend geringfügig zu.

11) Erna P., 61 Jahre. Starkes Bluten nach Bagatellverletzungen, spontanes Auftreten von Hämatomen an Armen und Beinen, seit fünf Monaten schlechter Appetit.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: $2{,}27 \times 10^6$. Hb: 8,8 g%.
Leuko.: 1250. Thrombo.: 50000. BKS. 62/112.
Diagnose: akute Myeloblasten-Leukose.
Therapie vor der ersten Sternalpunktion: keine spezifische; vor der zweiten Sternalpunktion: Prednison.
Exitus letalis infolge des bestehenden Leidens.
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 7 Monate.

Der erste zellarme Ausstrich zeigt eine linksverschobene, in allen Vorstufen vertretene Leukopoese. Reife Granulozyten sind vermindert anzutreffen. Die Erythropoese ist normoblastisch (30,7%). Dem 14 Tage später angefertigten Präparat ist das Überwiegen der Myeloblasten und Promyelozyten, sowie die Hypoplasie der reifen Stufen zu entnehmen. Lymphozyten (7,5%) und Plasmazellen (0,7%) im Normbereich.

		0h	24h	48h
(1)	Myelobl.	73,9	63,2	34,2
(3)	Promyel.	5,9	15,3	20,3
(5)	Myeloz.	3,4	8,3	24,7
(7)	eos. M.	3,0	3,9	4,1
(8)	bas. M.	0,9	1,0	1,9
(9)	Jgdl.	3,4	5,9	3,8
(10)	Stabk.	2,3	0,3	1,1
(11)	Segm.	4,8	0,3	3,1
(12)	eos.+bas. S.	2,4	1,8	6,8
		100,0	100,0	100,0

Tab. 11a: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.
1. Kulturansatz

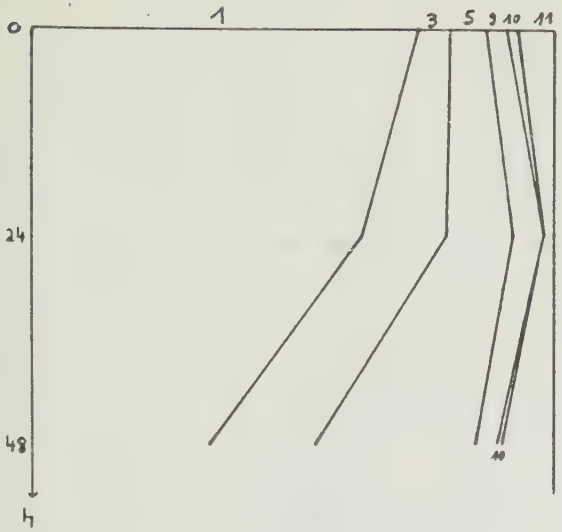

Abb. 11a

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.11a). (Die Reifungskurve konnte nur bis zu 48 Stunden dargestellt werden; sie läßt Mikroformen unberücksichtigt):
Die Myeloblasten erfahren eine fortschreitende, ausgeprägte Verminderung.
Promyelozyten und Myelozyten zeigen eine deutliche Vermehrung.
Die Verminderung des prozentualen Myeloblastenanteils findet im Verlauf von 24 Stunden zugunsten der Promyelozyten, nach 48 Stunden zugunsten der Myelozytenfraktion statt.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich im Laufe der ersten 24 Stunden geringfügig. Anschließend strebt sie dem Ausgangswert wieder zu.
Zusammenfassung:
Bis zu 48 Stunden Beobachtungszeit wird eine deutliche Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion sichtbar.
Die Verminderung der Myeloblasten beträgt nach 48 Stunden 54% des Ausgangswertes.

		0h	24h	48h	72h
(1)	Myelobl.	53,9	54,3	50,6	42,7
(3)	Promyel.	14,3	22,1	13,1	33,0
(5)	Myeloz.	9,4	9,1	14,0	10,6
(7)	eos. M.	0,6	1,8	2,5	0,4
(8)	bas. M.	0,2	0,5	0,3	0,2
(9)	Jgdl.	5,1	1.4	5.2	2,9
(10)	Stabk.	4,9	1,0	2,8	1,6
(11)	Segm.	8,8	7,0	6,5	5,5
(12)	eos.+bas. S.	2,8	2,8	5,0	3,1
		100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 11b: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.
2. Kulturansatz

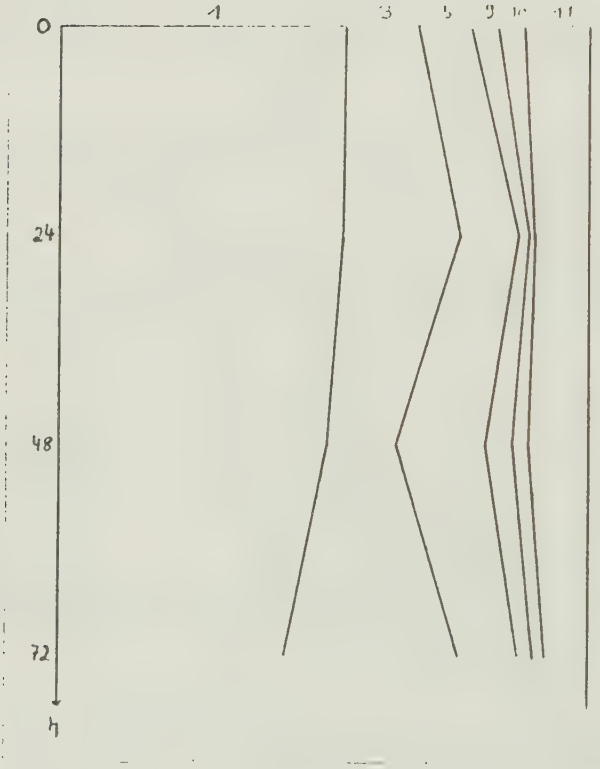

Abb. 11b

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.11b). (Die Reifungskurve läßt Mikroformen unberücksichtigt):
Die Myeloblasten erfahren nach 24 Stunden Beobachtungszeit eine Verminderung.
Die Promyelozyten nehmen innerhalb der ersten 24 Stunden deutlich zu. Nach 48 Stunden haben sie ihren Ausgangswert gering unterschritten und streben dann ihrem Maximum in 72stündiger Kultur zu.
Die Myelozyten verhalten sich annähernd konstant; ihr Maximum findet sich in 48stündiger Kultur.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich während der ersten 24 Stunden, strebt zwischen dem ersten und zweiten Kulturtag ihrem Ausgangswert zu und findet sich in 72-stündiger Kultur wieder vermindert.
Zusammenfassung:
Nach 72 Stunden Beobachtungszeit ist eine Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion nur angedeutet.
Die Verminderung der Myeloblasten nach 48 Stunden beträgt 6% des Ausgangswertes.

12) Auguste K., 74 Jahre. Starkes Nasenbluten, Belastungsdyspnoe, schlechter Schlaf, Gewichtsabnahme.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: $2{,}04 \times 10^6$. Hb: 7,8 g%.
Leuko.: 5000. Thrombo.: 84000. BKS: 29/60.
Diagnose: akute Myeloblasten-Leukose.
Therapie: vor der ersten Sternalpunktion: keine spezifische; vor der zweiten Sternalpunktion: 6-Mercaptopurin und Prednison.
Exitus letalis infolge subduraler Blutungen.
Die klinische Diagnose wurde durch die Obduktion bestätigt.
Krankheitsdauer seit gesicherter Diagnose: 53 Tage.

Der erste Zellausstrich zeigt auffallend große Zelldichte. Zellen der weißen Reihe finden sich in allen Reifestufen. Es dominieren Myeloblasten und Promyelozyten. Myelozyten sind ca. 50% unter der Norm vertreten.
Das vier Wochen später angefertigte Präparat zeigt, daß die weiße Reihe in allen Vorstufen vertreten ist, in den reifen jedoch hypoplastisch. Die Myeloblastenfraktion ist dem Vorpunktat

gegenüber um nicht ganz 50% vermindert. Promyelozyten und Myelozyten befinden sich im Normbereich. Im intensiv blau gefärbten Myeloblastenzytoplasma treten gehäuft Vakuolen auf.
Die segmentkernigen Granulozyten, von denen ein Großteil hypersegmentiert ist, verhalten sich quantitativ normgerecht. Die rote Reihe ist stark angeregt (23% und 18,1%) und linksverschoben. Diagnose: Myeloblasten-Leukose.

		0h	24h	48h
(1)	Myelobl.	47,6	40,8	25,5
(3)	Promyel.	22,0	32,8	18,0
(5)	Myeloz.	7,4	10,2	17,3
(7)	eos. M.	1,8	0,8	1,3
(8)	bas. M.	1,1	1,2	0,6
(9)	Jgdl.	4,9	4,7	7,6
(10)	Stabk.	3,9	1,9	7,6
(11)	Segm.	10,7	6,9	18,4
(12)	eos.+bas. S.	0,6	0,7	3,7
		100,0	100,0	100,0

Tab. 12a: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.
1. Kulturansatz

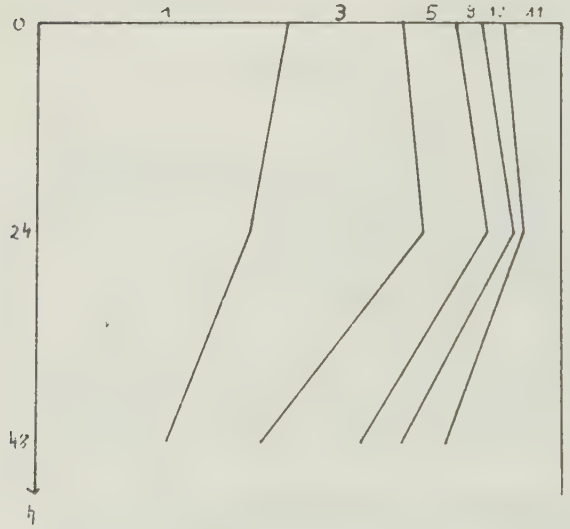

Abb. 12a

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.12a). (Die Reifungskurve konnte nur bis 48 Stunden dargestellt werden; sie läßt Mikroformen unberücksichtigt):
Die Myeloblasten erfahren eine ausgeprägte, fortschreitende Verminderung.
Die Promyelozyten zeigen während der ersten 24 Stunden eine deutliche Zunahme. Anschließend verringern sie sich soweit, daß ihr Anteil unter dem Ausgangswert liegt.
Die Myelozyten haben bis zu 48 Stunden Beobachtungszeit fortschreitend zugenommen.
Die Gesamtzahl der Myeloblasten und Promyelozyten hat nach 48 Stunden eine relative Verschiebung zugunsten der Myelozyten erfahren.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich während der ersten 24 Stunden. Nach 48 Stunden ist ihr relativer Anteil größer als im Original.
Zusammenfassung:
Bis zu 48 Stunden Beobachtungszeit prägt sich eine deutliche Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion aus. Die Verminderung der Myeloblasten beträgt nach 48 Stunden 47% des Ausgangswertes.

		0h	24h	48h	72h
(1)	Myelobl.	25,4	36,1	17,2	13,3
(3)	Promyel.	6,7	24,4	19,4	11,3
(5)	Myeloz.	21,4	8,8	16,8	24,9
(7)	eos. M.	0,3	2,0	0,6	1,9
(8)	bas. M.	0,1	0,9	0,6	0,5
(9)	Jgdl.	12,7	4,5	10,8	8,8
(10)	Stabk.	4,0	3,4	2,9	10,1
(11)	Segm.	27,7	19,2	29,7	26,6
(12)	eos.+bas. S.	1,7	0,7	2,0	2,6
		100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 12b: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese.
2. Kulturansatz

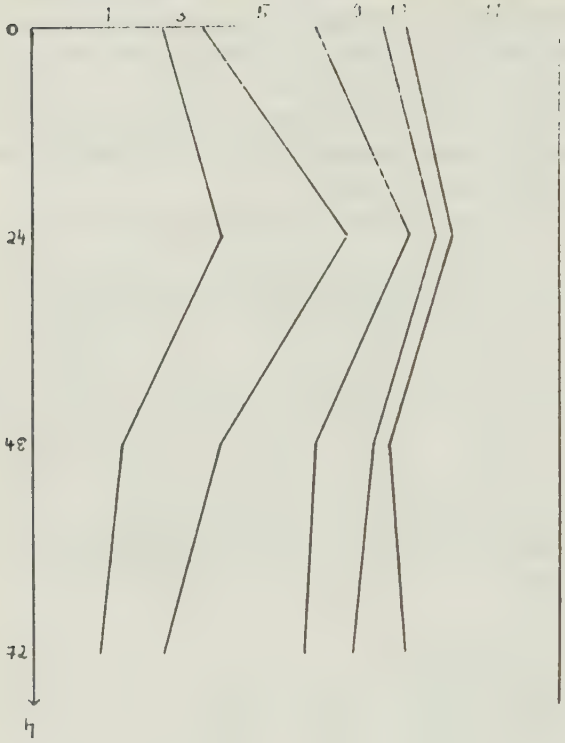

Abb. 12b

Darstellung der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit (Abb.12b). (Die Reifungskurve läßt Mikroformen unberücksichtigt):
Die Myeloblasten erfahren nach anfänglicher Zunahme eine fortschreitende, ausgeprägte Verminderung.
Die Promyelozyten zeigen während der ersten 24 Stunden eine deutliche Zunahme; anschließend verringern sie sich fortschreitend.
Die Myelozyten haben nach anfänglicher Verminderung bis zu 72 Stunden zugenommen.
Die Gesamtzahl der Myeloblasten und Promyelozyten hat nach 72 Stunden eine relative Verschiebung zugunsten der Myelozyten er-

fahren.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich während der ersten 24 Stunden; dann strebt sie dem Ausgangswert wieder zu.
Zusammenfassung:
Bis zu 72 Stunden Beobachtungszeit prägt sich eine deutliche Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion aus. Die Verminderung der Myeloblasten beträgt nach 48 Stunden 33% des Ausgangswertes.

Zusammenfassung der Ergebnisse:

		0h	24h	48h	72h
(1)	Myelobl.	53,2	43,9	33,4	20,5
(2)	Mikroformen	2,7	7,8	8,3	8,8
(3)	Promyel.	15,8	19,3	18,5	20,5
(4)	Mikroformen	0,2	2,3	1,1	3,7
(5)	Myeloz.	12,9	15,9	23,1	22,0
(6)	Mikroformen	0,3	1,1	2,0	9,5
(7)	eos. M.	0,9	1,5	1,5	2,9
(8)	bas. M.	0,4	0,6	0,5	0,8
(9)	Jgdl.	4,8	3,0	3,6	4,0
(10)	Stabk.	3,1	1,1	1,4	2,1
(11)	Segm.	4,9	2,8	5,0	4,4
(12)	eos.+bas. S.	0,8	0,7	1,6	0,8
		100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 13: mittlere prozentuale Zellverteilung der Granulopoese, gewonnen aus den 15 Einzelergebnissen.

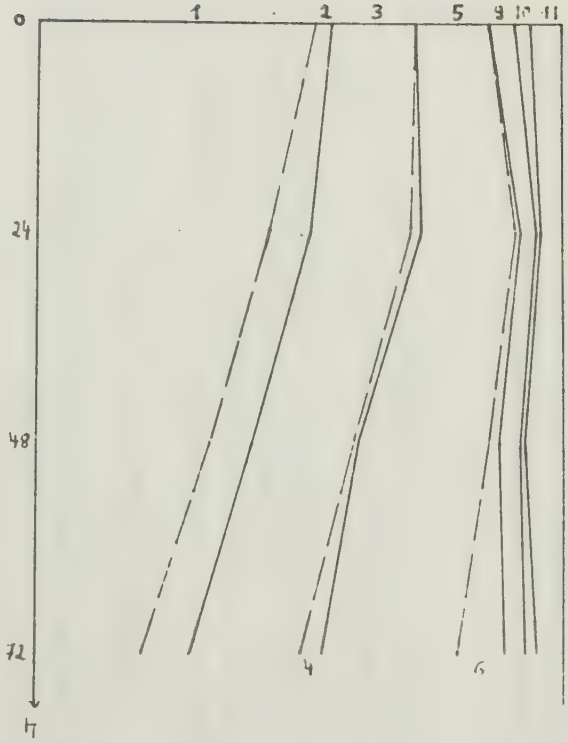

Abb. 13: graphische Darstellung der Prozentverteilung der Granulopoese bei akuter Leukose (15 Fälle)

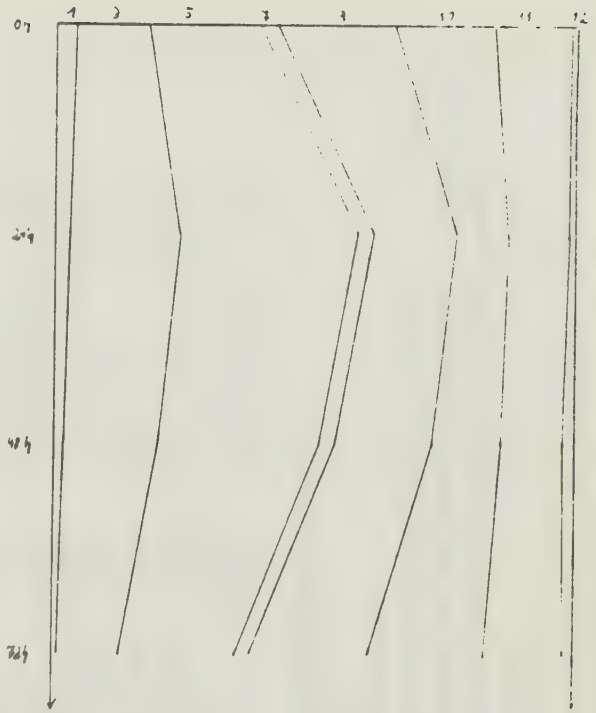

Abb. 14: graphische Darstellung der Prozentverteilung normaler Granulopoese (11 Fälle n.BOLL)

Darstellung der Differentialverschiebung pro Zeiteinheit (Abb.13):
Die Myeloblasten erfahren eine fortschreitende, ausgeprägte Verminderung.
Die Promyelozyten nehmen während der ersten 24 Stunden deutlich zu. Anschließend bleibt ihr Anteil annähernd konstant. Die Myelozyten vermehren sich fortschreitend bis zu 48 Stunden. Dann zeigt ihr Mikroanteil eine erhebliche Zunahme.
Der Verminderung der Myeloblasten entspricht die fortschreitende Zunahme der Myelozyten bis zu 48 Stunden, anschließend die Vermehrung der Mikroformen.
Die Mikroformen nehmen bis zu 72 Stunden zu; am ausgeprägtesten ist in 72stündiger Kultur derjenige Anteil vermehrt, den die Myelozyten bilden.
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich während der ersten 24 Stunden und strebt dann dem Ausgangswert wieder zu.
Zusammenfassung:
Bis zu 48 Stunden ist eine Reifung innerhalb der teilungsfähigen Granulopoesefraktion sichtbar. Mikroformen sind erst in 72-stündiger Kultur deutlich vermehrt anzutreffen. Die nicht teilungsfähige Fraktion verhält sich konstant.

Vergleich zwischen der Differentialverschiebung in vitro pro Zeiteinheit im Normalfall (Abb.14) und bei akuter Leukose (Abb.13):
Da beide Kurven in ihren Ausgangswerten zu große prozentuale Verteilungsdifferenzen aufweisen, erscheint es sinnvoll, allein die zeitbedingten Abweichungen der einzelnen Reifestufen von ihrem Ausgangswert zu betrachten.
Die Myeloblastenfraktion erfährt in beiden Fällen eine fortschreitende, ausgeprägte Verminderung: im Normalfall um ca. 50%, bei akuter Leukose um mehr als 50% des Ausgangswertes.
Die Promyelozytenfraktion normaler Granulopoese zeigt während der ersten 24 Stunden eine deutliche Zunahme. Im weiteren Zeitablauf erreicht sie den Ausgangswert wieder und verringert sich bis zu 72 Stunden Beobachtungszeit weiterhin.
Vergleichsweise haben die Promyelozyten im Fall akuter Leukose in 24stündiger Kultur geringfügiger zugenommen. Sie bleiben bis zu 72 Stunden relativ unverändert.

Die Myelozytenfraktion normaler Granulopoese ist in 24stündiger Kultur vermehrt vertreten, bis zum Ende des dritten Kulturtages hat sie den Ausgangswert wieder erreicht.
Bei akuter Leukose vermehren sich die Myelozyten bis zu 48 Stunden; dann erfolgt die weitere Vermehrung zugunsten der Mikroformen.
Während sich im Normalfall die eosinophilen Myelozyten im Zeitablauf quantitativ unverändert verhalten, erfahren sie im Fall der akuten Leukose eine Zunahme. (s. Tabelle 13)
Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion verringert sich während der ersten 24 Stunden in beiden Fällen. Im weiteren Zeitablauf streben beide dem Ausgangswert wieder zu, ohne diesen im Fall der akuten Leukose zu erreichen.
Zusammenfassung:
Die Reifungsdynamik normaler Granulopoese prägt sich in 24stündiger Kultur als prozentuale Verschiebung zugunsten der Promyelozyten und Myelozyten,
in 48stündiger Kultur zugunsten der Myelozyten,
in 72stündiger Kultur zugunsten der reifen Granulopoese aus.
Im Fall der akuten Leukose sind gleiche Reifungstendenzen bis zu 48 Stunden zu erkennen. In 72stündiger Kultur haben die Mikroformen erheblich zugenommen.

IV. Diskussion

Es stellt sich die Frage, ob die Reifungsverhältnisse der Granulopoese in vivo und unter Kulturbedingungen vergleichbares Verhalten zeigen. Untersuchungen von BOLL und FUCHS zufolge lassen sich Knochenmarkspunktate in vitro einige Tage in ihrer ursprünglichen Form am Leben erhalten. Mit den in vitro gewonnenen Werten der Mitosehäufigkeit und Verweildauer in den verschiedenen Reifestufen usw. konnten die zeitlichen Umwandlungen für die Zellzusammensetzung in Kultur mathematisch befriedigend vorhergesagt werden: "eine Beeinflussung der Zellverteilung durch das Kulturmedium kann daher innerhalb der ersten drei Tage keine wesentliche Bedeutung haben". Die genannten Voraussetzungen gestatten daher die beobachteten Phänomene in vitro mit denen in vivo in adäquate Beziehung zu setzen.

In unseren Ergebnissen der Fälle 1 und 2 prägten sich keine oder nur minimale Reifungstendenzen aus. Wie zuvor ausgeführt, handelt es sich in beiden Fällen um eine Parablasten-Leukose. Unsere Beobachtungen stehen in Einklang mit den Befunden von FIESCHI und ASTALDI, die besagen, daß Paramyeloblasten die Fähigkeit verloren haben, sich in reife Granulozyten umzuwandeln. Auch MAUER nimmt an, daß Leukosezellen zu Reifeteilungen nicht befähigt sind, so daß eine Population von Blasten resultiert. Stattdessen kommt es nach einer gewissen Zeit zur Entdifferenzierung und fibroblastischen Umwandlung (FRIEDERICI zit.n.BOLL).

Ein Ausbleiben der Reifung zeigen auch die Ergebnisse 3 und 4, die Ausdruck einer Mikromyeloblasten-Leukose sind. Bei der Betrachtung der individuellen Reifungskurven stellt sich die Frage nach der Pathogenese der auch in einzelnen anderen Fällen beobachteten Vielzahl an Mikroformen. Nach ROHR ist die Tendenz zu Anaplasie bei einigen Leukoseformen sehr ausgeprägt, so daß hochgradig polymorphe Zellformen auftreten, besonders kleine, häufig ganz plasmafreie Zellen, die man seit NAEGELI als Mikroblasten bezeichnet. Dem entsprechen unsere Beobachtungen, daß Mikroformen in der Myeloblasten-, Promyelozyten- und Myelozytenfraktion parallel der Bebrütungszeit in der Reifungskurve aus

15 Einzelergebnissen (Abb.13) geringfügig, bei einzelnen Fällen jedoch exzessiv zunehmen (z.B. Ergebnis 3). Das morphologische Bild zeigt in Bezug auf die Größenverhältnisse in Sonderheit unter Kulturbedingungen eine auffallende Variationsbreite. Für die Vielfalt der Degenerationserscheinungen wird die verminderte Proliferationsaktivität und reduzierte Mitosehäufigkeit der Leukosezellen (ASTALDI,BOLL u.a.) ursächlich zu nennen sein.

Einen weiteren Hinweis auf die Pathogenese der vermehrt vertretenen Mikroformen gibt die Applikation von Prednison, die den Sternalpunktaten der Ergebnisse 3-5, 11b und 12b vorausging. Über die Wirkung von Prednison auf das Knochenmark finden sich auffallend differierende Aussagen. Einerseits wird tierexperimentell eine Vermehrung aller Vorstufen im Mark (HUDSON,HANSEN,SCHÖN,YOFFEY,CECCHI zit.n. FLEISCHER) oder eine absolute Zunahme der weißen Vorstufen (QUITTNER zit.n.FLEISCHER) beobachtet, andererseits läßt sich ebenfalls tierexperimentell eine Gesamtzellzahlverminderung nachweisen (FLEISCHER). Beim Menschen wurden in vivo keine Veränderungen der Granulopoese gefunden (FERRARI zit.n. FLEISCHER). Eine Förderung der Ausreifung in vitro beschrieb THOMAS bei Kinderleukosen. Anderen Autoren zufolge sollen Nebennierensteroid-Präparate auf Leukosezellen des menschlichen Knochenmarks hemmend wirken, normale Zellen aber zur Proliferation stimmulieren (SCHULMANN,CRAMER, GASSER zit.n. GUNZ). In unseren Ergebnissen, den Fällen 11a-b und 12a-b, ist die Myeloblastenzahl nach Applikation von Prednison in den jeweils zweiten Punktaten (11b u. 12b) deutlich vermindert, verglichen mit den Vorpunktaten ohne Prednisonbehandlung (11a u. 12a). Die Ausreifungsgeschwindigkeit jedoch, die sich in der prozentualen Verminderung der Myeloblasten pro Zeiteinheit ausdrückt, ist nach Prednisongaben nicht so groß wie in den entsprechenden Kulturansätzen ohne vorausgehende Prednisonmedikation. Wie die überwiegende Ausbildung von Mikroformen bei den Mikromyeloblasten-Leukosen (Fälle 3-4) zeigt, ist auch in diesen Fällen im Gegensatz zu THOMAS' Beobachtungen eine Hemmung der Ausreifung durch Prednison deutlich.

Die Ergebnisse der Fälle 5-12, bei denen es sich um Myeloblasten- oder Promyelozyten-Leukosen handelt, zeigen eine mehr oder minder ausgeprägte Reifung. Ebenso hat THOMAS bei Kinder-Leukosen einen entsprechenden Rückgang der Myeloblasten zugunsten von Promyelozyten und Myelozyten bis zu 96 Kulturstunden beobachten können. Die von uns angefertigte graphische Darstellung der Mittelwerte (15 Fälle) zeigt, daß schon in 24stündiger Kultur eine Verschiebung zugunster der Myelozyten sichtbar wird, die sich bis zu 72 Stunden Beobachtungszeit immer deutlicher ausprägt. Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion unterliegt nur geringfügigen Veränderungen. Vergleicht man die Differentialverschiebung der Granulozyten bei akuten Leukosen mit den Veränderungen normaler Knochenmarkszellen in vitro (Abb.13 u. 14), so ist die Reifungsdynamik in beiden Fällen die gleiche, das Ausmaß der prozentualen Verschiebungen gering unterschieden (s.S.37ff).

Was die zeitlichen Verhältnisse der Zellreifung normaler Granulopoese, in Sonderheit die Entwicklung der Myelozyten zum Metamyelozyten betrifft, so erfährt nach den Lebendbeobachtungen BOLLs der Myelozyt in der 66. Stunde eine Umwandlung zum Stabkernigen. In der 89. Stunde kann er als neutrophiler Segmentkerniger angesprochen werden. DNS-markierte Stabkernige treten nach 1,5 bis 2 Tagen, maximal jedoch erst nach 5 Tagen, Segmentkernige nach 6 Tagen im Blut auf (FLIEDNER). Die mit Hilfe der DNS-Markierung und durch die Lebendbeobachtungen erarbeiteten Werte machen deutlich, daß sich die durch Reifung bedingten quantitativen Veränderungen eines Myeloblastenmarks während der 72 Kulturstunden nicht auf die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion auswirken können, was unseren Beobachtungen über die Differentialverschiebung in vitro entspricht.

Von den 15 in vitro Versuchen überwiegt in 11 Fällen die Reifung (Ergebnisse 5-12). Der differente Grad der beobachteten Ausreifung wird durch den unterschiedlichen Gehalt an pathologischen Blasten in den einzelnen Kulturansätzen bestimmt, die aufgrund ihrer Veränderungen keiner Reifeteilung unterliegen. In den übrigen 4 Fällen, den beiden Paramyeloblasten-Leukosen (Ergebnisse 1-2) und den zwei Mikromyeloblasten-Leukosen (Ergebnisse

3-4), ist keine Reifung zu beobachten. Um diese Zweiteilung zu veranschaulichen, stellen wir die Ergebnisse der Fälle 1-4 und 5-12 in je einer graphischen Darstellung der Mittelwerte (Abb. 15 u. 16) gegenüber.

Betrachtet man die Überlebenszeiten der Patienten, so ergibt sich aus beiden Reifungstypen in vitro kein Hinweis auf die Prognose.

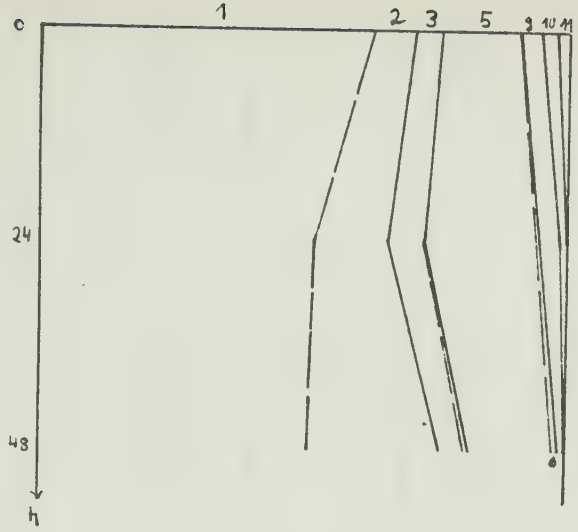

Abb. 15: graphische Darstellung der Mittelwerte, gewonnen aus den Fällen 1-4

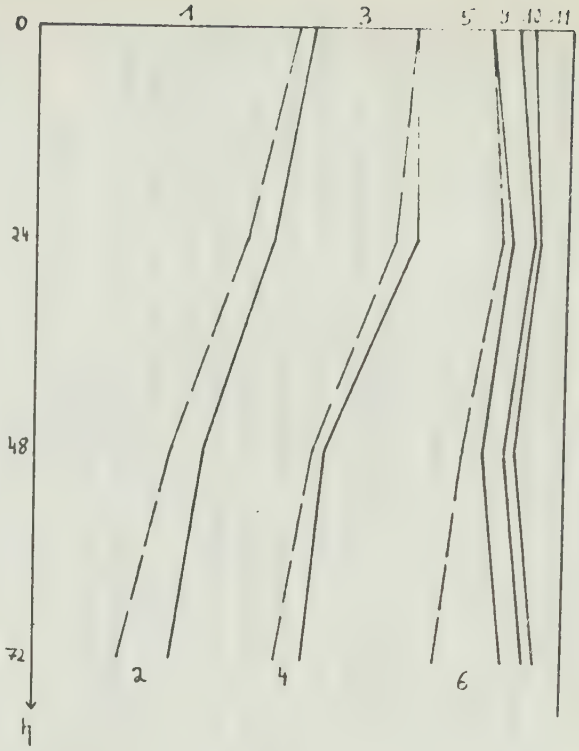

Abb. 16: graphische Darstellung der Mittelwerte, gewonnen aus den Fällen 5-11

V. Zusammenfassung

Die Paramyeloblasten- und Mikromyeloblasten-Leukosen zeigen in vitro keine Reifung. Handelt es sich demgegenüber um Myeloblasten- und Promyelozyten-Leukosen, prägen sich die Reifungsphänomene derart aus, daß parallel der Kulturzeit eine Verschiebung der Myeloblasten zu Promyelozyten und Myelozyten stattfindet.

Die nicht teilungsfähige Granulopoesefraktion bleibt annähernd unverändert. Reife Granulozyten, die ihre Entwicklung von Myeloblasten ausgehend, über alle Reifestufen nehmen, sind nach 72 Stunden Beobachtungszeit nur in geringer Anzahl zu erwarten. Die in Einzelfällen erhebliche Ausbildung von Mikroformen findet sich nach vorausgehender Prednisonmedikation. Sie ist ferner durch den unterschiedlich großen Anteil an pathologischen Blasten bedingt, die nach vorwiegend isohomoplastischer Teilung Degenerationserscheinungen unterliegen. Die Mikroformen nehmen mit der Bebrütungszeit zu.
Ein Hinweis auf die Prognose ließ sich nicht erarbeiten.

VI. Literaturverzeichnis

1. Astaldi,G. u. G.Cardinali — On the Relationship between Proliferation and Maturation of bloodforming Cells surviving in vitro Haem. Latina,II (1959)

2. Astaldi,G. u. C.Mauri — La Valutazione dell' Attivita Proliferativa delle Cellule Midollari. Studio di un "Test Statmocinetica" Haematologica,XXXIII (1949)

3. Boll,I. — Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1966)

4. Boll,I. — Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkszellen in vitro. Ausreifung eines Myelozyten zum Segmentkernigen Folia haem., Neue Folge 3,78 (1959)

5. Boll,I. — The Maturation of Normal Granulocytopoiesis in vitro compared with that of Chronic Myelocytic Leukemia 9.Europ.Hämatol.Kongr.Lissabon (1963)

6. Boll,I. u. G.Fuchs — Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro Zeitschrift für Blutforschung,VII,257 (1961)

7. Boll,I. u. O.Ganssen — Die Mitosedauer der Paraleukoblasten Acta haem. 27,229 (1962)

8. Damashek,W. u. F.Gunz — The Treatment of Leukemia aus Leukemia, Grune & Strattan, New York a.London (1958)

9. Fieschi,A. — Semiologie d. Knochenmarks, Erg.d.Inn.Med. u.Kinderhkde 59,396 (1941)

10. Fleischer,J. — Die Wirkung längerer Gaben von Prednisolon und Endoxan auf das Knochenmark des Kaninchens Folia haem., Neue Folge 7,4 (1963)

11. Fliedner,T.M., E.P.Cronkite u. V.P.Band — Die Proliferationsdynamik der Blutzellbildung, autoradiographisch untersucht mit tritiummarkiertem Thymidin Schw.Med.Wschr.89,1061 (1959)

12. Galton,D.A.G. — The Present Status of Chemotherapy in Leukaemia European Society of Haematology I,40 (1957)

13. Gasser,C. — Langdauernde Remissionen akuter Leukämien im Kindesalter Med.Klinik, 50,385 (1964)

14. Gavosto,F. G.Maraini a. A.Pileri — Proliverative Capacity of Acute Leukaemia Cells Nature 187,611 (1960)

15. Heilmeyer,L. u. H.Begemann — Handb.d.Inn.Med., 4.Auflage, 2.Band Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1951)

16. Heilmeyer,L. u. A.Hittmaier — Handb.d.gesamt.Hämatologie, Band I Urban-Schwarzenberg München-Berlin-Wien (1957)

17. Mauer,A.M. u. V.Fischer — In vivo Study of Cell Kinetics in Acute Leukaemia Nature 197,574 (1963)

18. Mauer,A.M. u. V.Fischer — Comparison of the Proliferative Capacity of Acute Leukaemia Cells in Bone Marrow and Blood Nature 193,1085 (1962)

19. Rohr,K. — Das menschliche Knochenmark
Thieme Verlag, Stuttg., 3.Aufl. (1960)

20. Thomas,K. — Leukämie im Kindesalter
Beobachtungen von Reifungseffekten in vitro. Transact. 6th Congr.Europ. Soc.of Haematol., II,79 (1957)

21. Thomas,K. u. E.Seidler — Knochenmark in vitro unter dem Einfluß cytostatischer und hormoneller Substanzen
Folia haem., Neue Folge 4,121 (1960)

22. Timofejewsky,A.D. u. S.W.Benewolenskaja — Prospektive Potenz der Myeloblasten auf Grund von Explantationsversuchen
Virchow Arch. 263,719 (1927)

23. Weitzmann,G. u. E.Posern — Über das Wachstum menschlichen Knochenmarks in vitro
Virchow Arch. 299,458 (1937)

24. Documenta Geigy — Wissenschaftliche Tabellen
6.Aufl. (1960)

Frau Priv. Doz. Dr. med. Irene Boll möchte ich für die Überlassung des Themas, die vielseitige Förderung bei der Anfertigung dieser Dissertation und die erfolgte Vorveröffentlichung meinen besonderen Dank sagen.

Am 17. Juni 1940 wurde ich in Herford geboren. Nach vierjähriger Grundschulzeit besuchte ich von 1951 bis zum Abitur 1960 das Friedrichs-Gymnasium zu Herford. Anschließend leistete ich vorzeitig den Wehrdienst ab. Zum SH 1961 immatrikulierte ich mich an der medizinischen Fakultät der Universität Saarbrücken. Die Zulassung an der F.U. Berlin erfolgte zum SH 1963. Nach einsemestrigem Studium in Wien folgte die Wiederimmatrikulation an der F.U. Berlin zum WH 1965, an der ich am 14.9.1967 die ärztliche Prüfung bestand.
Seit Oktober 1967 bin ich als Medizinalassistent tätig.

Fred Höpfner · Dissertationsdruck · 1 Berlin 12 · Pestalozzistr. 105 · Tel. 318885